

光学顕微鏡を用いた無染色病理組織標本の 3 次元核位置抽出

Detection of 3-D nuclear positions in unstained histological sections using optical microscope

D-16 豊島 早織[†] 山見 慧[†] 中野 雅行[‡] 高橋 正信[†]
 Saori Toyoshima Satoshi Yamami Masayuki Nakano Masanobu Takahashi
 芝浦工業大学[†] 横浜市立大学[‡]
 Shibaura Institute of Technology Yokohama City University

1. はじめに

病理組織診断の支援のため、画像解析により定量的な特徴量を抽出する研究が進められている。早期肝細胞癌の鑑別には核密度が有用な特徴量であるが、標本の厚さによって核密度が変化するという問題がある。この問題は、厚い標本から 3 次元核密度を求めることで解決できる。3 次元核密度の解析には共焦点レーザー顕微鏡などが用いられるが、高額で一般の病理医が利用することは難しい。

我々は病理医が日常の診断に用いている光学顕微鏡を利用し、ピント位置をずらしながら撮影することにより、厚い標本の 3 次元画像を取得し、3 次元核密度を求める手法を提案した[1]。厚い標本を撮影するため無染色標本を利用しているが、明視野ではコントラストが低い問題があるため、光学顕微鏡で利用できる他の撮像法(暗視野, 位相差)も利用している。しかし、コンデンサを切り替えて撮像法を切り替える際に位置ずれが生じる可能性がある。我々はコンデンサを切替えないで 3 種類の画像を撮影できる手法(疑似撮像), および 3 種類の撮像法の合成画像を一度に撮影する手法(合成撮像法)を提案している[2]。このうち、今回は疑似撮像により 3 次元画像を取得し、核位置を 3 次元的に抽出することを目的とした。

2. 撮像

2.1 明視野撮像

標本を均一に照らし、光の吸収率の違いによって透過光の像にコントラストが付くことを利用して撮影する。

2.2 暗視野撮像

暗視野コンデンサにより明視野の光を遮蔽し、斜めから光を当てて散乱光や反射光を撮影する(図 1(左))。対物レンズに直接光が入らないため視野が暗くなる。

2.3 位相差撮像

屈折率差によって生じる光線の位相差を、コントラストに変換して観察できる。

2.4 疑似撮像

2.1 から 2.3 の撮像法はコンデンサを切り替えることで実現できるが、その代わりに照明光の経路に遮蔽板を設置し、遮蔽板のパターンを変更することによっても実現できる。例えば、暗視野は図 2(b)の遮蔽板を図 1(右)に示す位置に設置することで実現できる。この外部に遮蔽板を用いる手法(疑似撮像)はコンデンサの切替えが不要なため位置ずれが生じにくい利点がある。また、合成した遮蔽板を用いることで複数の撮像法の合成画像を一度に撮影することも可能である(合成撮像法)。

今回はピント位置を $0.25\mu\text{m}$ ずつずらしながら 3 種類の疑似撮像法により無染色標本の 3 次元画像を取得した。

3. 核位置抽出手法

まず、撮影した 2 次元画像中の核位置を抽出した。次に、抽出された核位置を 3 次元空間でラベリングした後、小領域をノイズとして削除し、最終的に残ったものの重心

を 3 次元核位置とした。

2 次元画像中の核位置の抽出には従来研究[1]で用いた深層学習ネットワーク(図 3)を用いた。このネットワークは、抽出結果を画像として得るために画像入力, 画像出力とし、より深いネットワーク構成を可能とする ResNet を基本として構成している。なお、入力には Z 軸方向に連続する 3 枚の画像を用いた。

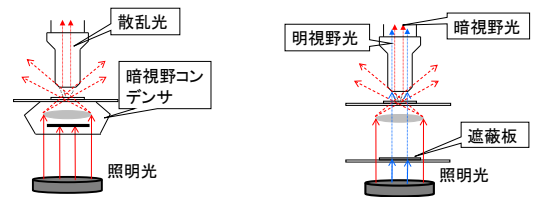


図 1 暗視野撮像(左)と疑似暗視野撮像(右)の光の道筋



(a)明視野 (b)暗視野 (c)位相差
図 2 疑似撮像用の遮蔽板

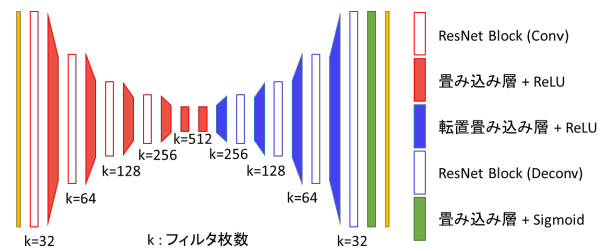


図 3 ネットワーク構成

4. 実験

肝組織の厚い無染色標本 4 枚を実験に用いた。それぞれの標本から核が視認できる 400×400 画素の領域を 2 箇所ずつ切り出し、計 8 箇所の画像を用いた。4 箇所が癌部, 4 箇所が非癌部である。今回は Z 軸方向に連続する 10 枚の画像の平均画像(厚さ $2.5\mu\text{m}$)を作成し入力として用いた。抽出された核位置の正解位置との誤差が $3\mu\text{m}$ 以内だったときに正しく抽出されたと判断した。

精度評価は同じ標本の画像が分かれなようにした 2 分割の交差確認により行った。結果を表 1 に示す。核と誤認して誤抽出されるものが比較的多かったため、F 値は 7 割程度の値となった。今後は Z 軸方向の位置精度を改善するとともに、誤抽出の原因を調べ精度を改善したい。また、合成撮像法により遮蔽板を変更せず一回の撮影で取得した画像を用いた核抽出も試みたい。

表 1 抽出精度

適合率	再現率	F 値
67.49%	75.27%	71.17%

[参考文献]

- [1] S. Yamami, et al.: "3D cell nuclei detection in unstained thick histological sections using optical microscope", IEEE EMBC2019, ThPOS-32.10, 2019.
 [2] M. Imai, et al.: "Composite imaging method for histological image analysis", IEEE EMBC2013, FrB05.7, 2013.